

Estimación de la utilidad de un sistema de análisis automático SCA (Sperm Class Analyzer) para el recuento y control de calidad de fitoplancton en cultivo intensivo

B. Álvarez-Blázquez¹, M.J. Lago¹, C. Gómez¹ y J. Iglesias¹

¹ Instituto Español de Oceanografía (IEO). Subida a Radio Faro, 50. 36390 Vigo. Pontevedra.

E-mail: blanca.alvarez@vi.ieo.

Summary

The marine microalgae culture system has evolved since the beginning of aquaculture, where large volumes were produced to attain an adequate biomass, extensive culture, intensive continuous cultures and finally the semi continuous systems that are presently used, using photo bioreactors, which optimize the use of light and nutrients to attain optimal microalgae production in much lower volumes and shorter times, reducing space and time required, as well as costs related to material and hand labor.

The objective of this experiment was to validate an automatic sperm count normally used in the veterinary industry (SCA), for its use in microalgae count. Results indicate that the SCA is valid for this use. Furthermore, SCA can be of great utility and accuracy, when configured for the analysis of quality parameters in the intensive microalgae culture.

Resumen

Durante los últimos años el sistema de cultivo de microalgas marinas ha evolucionado desde los cultivos extensivos y la producción en bolsas de grandes volúmenes para alcanzar la biomasa adecuada, pasando por sistemas de cultivo intensivo en continuo y llegando en la actualidad al uso de un sistema semicontinuo, a base de fotobiorreactores que aprovechando al máximo la luz, consigue alcanzar producciones óptimas en volúmenes y tiempos mucho más reducidos, economizando espacio, tiempo, material e incluso personal.

Este experimento consistió en la validación para microalgas de un sistema de valoración y recuento automático de uso veterinario para análisis de esperma (SCA). Los resultados indican que este sistema no sólo es operativo, sino que puede ser de gran utilidad configurando la aplicación precisa para el análisis de los parámetros de calidad en el cultivo intensivo de fitoplancton.

Justificación

En el módulo de cultivos marinos del Centro Oceanográfico de Vigo (IEO) se ha optimizado la producción de microalgas mediante un sistema de fotobiorreactores en batería, instalados por la empresa AQUALGAE. La instalación está funcionando al máximo rendimiento, suministrando biomasa de las distintas especies de microalgas con un sistema de cultivo semicontinuo. Consta de una estructura de 12 fotobiorreactores en batería de 100 litros de capacidad, con aporte de agua de mar filtrada y esterilizada mediante un sistema de tratamiento por ozono, en los que se cultivan distintas especies de fitoplancton: *Isochrysis T-Iso*, *Nannochloropsis gaditana*, *Tetraselmis chuii*, *Rhodomonas lens*, y *Picochlorum sp.* El montaje lleva incorporado un sistema automático de monitorización y control de los diversos parámetros del medio de cultivo: O₂, CO₂, pH, temperatura, luz, etc. Debido a que se trabaja con grandes densidades celulares y resulta de vital importancia controlar exhaustivamente la biomasa producida, se vio necesaria la incorporación a la rutina de trabajo de un sistema de recuento y valoración del cultivo de las microalgas más operativo que el tradicional. Para ello se trabajó en la puesta a punto de un sistema de monitoreo mediante una aplicación y software SCA suministrado por la empresa MICROPTIC S.L., creada inicialmente para análisis automático de espermatozoides (movilidad y concentración) con aplicaciones veterinarias.

Este experimento consistió en la validación de la técnica de recuento automático SCA y su posible adaptación a las necesidades específicas para valoración automática de las distintas especies de microalgas frecuentemente utilizadas en acuicultura marina.

Material y Métodos

Para evaluar esta técnica se analizaron 9, 16, 18, 17 y 17 muestras de *Nannochloropsis gaditana*, *Picochlorum sp.*, *T-Iso*, *Tetraselmis chuii* y *Rhodomonas lens* respectivamente, en diferentes fases del cultivo. De cada una de

las muestras se separaron cuatro alícuotas para su análisis por duplicado según los distintos sistemas planteados: manual en placa Makler, manual en placa Thoma, automático con aplicación SCA de la muestra sin fijar y automático con aplicación SCA de la muestra fijada con solución de lugol. Se realizaron un total de 72, 128, 144, 136 y 136 lecturas respectivamente de cada una de las especies citadas anteriormente (Tabla 1). Para que el sistema de recuento automático fuese operativo, se instaló una cámara fotográfica digital de captura de imágenes acoplada al microscopio con contraste de fases, marca Nikon conectada un PC provisto del software específico suministrado por la empresa MICROPTIC. La aplicación está configurada para realizar el recuento de células sobre placas o portas desechables (tipo Leja) o bien sobre una placa o cámara Makler de manera que mediante múltiples exposiciones fotográficas con la cámara fija, se analiza la muestra de fitoplancton. El programa SCA que más se asemeja al perfil del análisis de fitoplancton es el de movilidad y concentración. Este programa se configuró para las distintas especies de fitoplancton que se pretendían analizar (área de partícula, Ph + ó -, calibración, etc). A partir de la muestra de fitoplancton seleccionada el software detecta automáticamente las células, realiza el recuento y proporciona los datos de concentración. Además este sistema aporta informes individuales de cada una de las muestras, con imágenes, gráficos y datos numéricos mediante una base de datos exportable o compartible con otros programas o bases de datos ya existentes. Como sistemas manuales de recuento se utilizaron la placa Thoma y la placa de recuento Makler debido a que se adapta muy bien, tanto para el recuento manual como para soporte de la muestra para análisis automático.

Resultados y Discusión

Los resultados de los recuentos según los sistemas indicados se compararon mediante análisis de varianza (ANOVA) de una vía, utilizando el programa estadístico Statistica 10.0. Las diferencias entre los sistemas manuales y automático (SCA) no fueron significativas ($p>0.005$) para el 100 %, 93.75%, 83.3%, 94,12% y 88,24% de las lecturas valoradas de *Nannochloropsis gaditana*, *Picochlorum*, *T-Iso*, *Tetraselmis chuii* y *Rhodomonas lens* respectivamente (Tabla 1). Se ha comprobado que el recuento celular automático para las especies con movimiento es más fiable cuando se utiliza un fijador celular, aunque este problema podría subsanarse modificando la configuración de la aplicación, adaptándola a las características específicas de las microalgas.

Tabla 1. Resultados de los recuentos realizados para cada una de las especies de fitoplancton

| | <i>Nannochloropsis gaditana</i> | <i>Picochlorum sp.</i> | <i>T-Iso</i> | <i>Tetraselmis chuii</i> | <i>Rhodomonas lens</i> |
|----------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| Nº muestras analizadas | 9 | 16 | 18 | 17 | 17 |
| Sist. de recuento/muestra | Manual placa Makler, Manual Placa Thoma, Automática SCA (muestra sin fijar) y Automática SCA (muestra fijada) | | | | |
| Nº de réplicas/sist. de recuento | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| Total lecturas | 72 | 128 | 144 | 136 | 136 |
| Dif. no significativas (%) | 100 | 93.75 | 83.3 | 94.12 | 88.24 |
| Sist. de recuento recomendado | Automático SCA Muestra sin fijar | Automático SCA Muestra sin fijar | Automático SCA Muestra sin fijar | Automático SCA Muestra fijada | Automático SCA Muestra fijada |

Se concluye que el sistema de análisis automático con la aplicación SCA (Sperm Clase Analyzer) es aplicable para el recuento de microalgas. Además puede ser una herramienta muy interesante para el análisis de la morfometría y morfología de las células y abrir un campo de análisis de parámetros específicos que permitan valorar con más criterios la calidad del cultivo de las distintas especies de fitoplancton.